

Bacteriologische und chemische Studien

über

Sauerkrautgährung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

einer

hohen naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Eugen Conrad aus Dresden.

München 1897.

Druck von R. Oldenbourg.

Bacteriologische und chemische Studien

über

Sauerkrautgährung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

einer

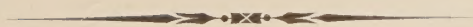
hohen naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Eugen Conrad aus Dresden.



München 1897.

Druck von R. Oldenbourg.

Von der Fakultät angenommen und genehmigt

am 27. October 1896.

Seinem hochverehrten väterlichen Freunde und ehemaligen
Lehrer,

Herrn Professor Dr. Rudolf Arendt,

Ritter pp.

Redacteur des Chemischen Centralblatt

zu Leipzig

in dankbarer Verehrung gewidmet.

Der Verfasser.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung und orientirende bacteriologische Versuche.

In der Litteratur ist bis jetzt nichts verzeichnet über den Erreger der Sauerkrautgährung. Eine Mittheilung von E. Reichardt¹⁾: »Zusammensetzung des Sauerkrautes und Nährwerth desselben« giebt in kurzen Zügen die Bereitung des Sauerkrautes in Nord- und Mitteldeutschland — die in Süddeutschland ebenso ist — an. Hiernach verwendet man verschiedene Kohlarten, vor allen das Weisskraut, *Brassica oleracea* var. *alba*.

Ueber die Gährung selbst theilt Verfasser nur Folgendes mit: »Das Kraut, namentlich von grossen Köpfen, wird von den äussersten festen Blättern befreit, dann die frischen, möglichst festen Köpfe zerschnitten oder geraspelt, wodurch langgestreckte, cylindrische Stielchen entstehen. Diese werden in Fässer eingestampft, mit wenig Salz versehen und fest bedeckt der Gährung, wenn möglich bei Zimmertemperatur, überlassen. Es entsteht bald die Milchsäuregährung und schreitet unsichtbar (?) weiter vor, durch den Geschmack aber wohl erkennbar. Später schliesst man die gefüllten Fässer gut und bewahrt dieselben im Keller auf. Kann keine Luft weiter zutreten, so hält sich das Sauerkraut ungefähr

1) E. Reichardt, Zeitschr. f. Nahrungsmitteluntersuchung u. Hygiene, Jena 1891.

ein Jahr und etwas länger. Schreitet dagegen die Gährung weiter vor, so entsteht Buttersäure und macht alsbald das Kraut ungeniessbar.«

Diese Mittheilung mag für die Praxis ausreichend sein, für die wissenschaftliche Untersuchung ist aber noch so ziemlich alles zu thun.

Ich benutzte daher gerne die Gelegenheit, der gütigen Aufforderung des Herrn Professors Dr. K. B. Lehmann folgend, mich mit dieser Frage eingehend zu beschäftigen.

Die ersten Versuche, den Erreger der Sauerkrautgährung zu finden, stellte ich mit vergohrenem Sauerkraut an. Ausstrichpräparate zeigten unter dem Mikroskop Bakterien, Hefen, Oidien und Mucorarten. Auf alkalischen und sauren Gelatineplatten-culturen entwickelten sich vor allem die Oidien und Mukorarten sehr stark, daneben trat *Bacterium fluorescens* auf. Weniger stark waren Hefearten vertreten. Irgend welche anderen Stäbchen-colonien waren nur vereinzelt anwesend.

Zunächst wurde versucht, die verschiedenen gefundenen Bakterien nach Herstellung von Reinculturen auf ihr Säurebildungsvermögen zu prüfen, wozu dieselben auf 2 % Zucker-Agar und Zucker-Bouillon geimpft wurden; doch konnte eine Gasentwicklung und Säurebildung nicht constatirt werden.

Da diese Versuche resultatlos verliefen, kam ich zu dem Schluss, dass der eigentliche Gährungserreger nur während der Gährung vorhanden sei und, nachdem die Gährung vollendet, einestheils durch Mangel an Nährstoffen zu Grunde gehe, anderntheils durch Einwirkung anderer Bakterien oder durch seine eigenen Gährungsprodukte, insbesondere durch den steigenden Säuregehalt, vernichtet werde.

Wie weit sich diese Vermuthung bestätigt hat, werden wir später sehen.

II. Der Organismus der Sauerkrautgährung.

Da der Organismus auf dem frischen Kraut höchst wahrscheinlich vorhanden sein musste, so untersuchte ich zunächst frisches Kraut auf seinen Bacteriengehalt.

Ein Weisskrautkopf wurde rasch mit einem sterilisirten Messer zerschnitten, nachdem vorher die obersten zwei bis drei Blattschichten entfernt und mit einem mit Aether getränkten Wattebausch die Einschnittfläche gereinigt war. Hierauf wurden aus dem Herz des Krautkopfes vorsichtig mehrere Proben genommen und damit Agar- und Gelatineplatten in 3 Verdünnungen gegossen. Der Versuch wurde an zwei verschiedenen Krautköpfen angestellt, doch konnten jedesmal nur Hefecolonien, und zwar durchschnittlich zwei bis drei Stück in den Originalplatten nachgewiesen, von Bakterien konnte nichts gefunden werden.

Ich zerschnitt nunmehr frische Krautköpfe, schichtete dieselben unter etwas Kochsalzzusatz fest aufeinander, gab ein wenig Wasser hinzu und überliess die Masse der Gährung bei Zimmertemperatur. Nachdem das Kraut 24 Stunden gegohren, wurde ein Ausstrichpräparat angefertigt. Dasselbe zeigte vor allem eine grosse Menge kleiner Stäbchen, daneben Hefezellen; Oidien wurden nicht gefunden.

Von diesem Jungkraut wurden Platten gegossen und die verschiedenen auftretenden Colonien als Reinculturen gezüchtet und ihr Verhalten auf Zucker-Agar geprüft. Hiebei fand ich, dass ein in grossen Mengen auftretendes Kurzstäbchen in Zucker-Agar schon nach einem halben Tage deutlich Gasblasen entwickelte, dass ferner nach circa einem Tage die Gasentwicklung rasch zunahm und ausserordentlich stürmisch wurde.

Bevor ich jedoch weiter auf die chemischen Leistungen dieses Kurzstäbchens in den verschiedenen Nährlösungen eingehe, will ich zunächst das charakteristische Wachsthum desselben auf den verschiedenen Nährböden beschreiben.

Das Bacterium wächst schon bei gewöhnlicher Temperatur auf allen Nährböden, festen wie flüssigen, ziemlich rasch, besonders üppig gedeiht dasselbe bei Bruttemperatur.

Ueber das Aussehen der Culturen auf den verschiedenen Nährböden giebt folgende Uebersicht Aufschluss:

A. Plattenculturen.

Gelatineplatte: Gelatine neutral oder schwach alkalisch. Oberflächliche Colonien: Anfangs kleine, rundliche, graue Pünktchen, welche sich alsbald mehr und mehr ausbreiten und auf der Oberfläche in Form eines grauweisslichen, durchscheinenden, unregelmässig zackig gelappten Belages zu erkennen geben. Zuerst mattglänzend, nehmen sie später gewöhnlich einen grösseren Glanz und etwas gelblichere Farbe an. Im durchfallenden Licht zeigten sie ein bläuliches, perlmutterähnliches Irisieren. Der Belag ist schwach über der Oberfläche erhaben. — Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Bei circa 60facher Vergrösserung erscheinen die Colonien im jüngsten Stadium schwach gelappt, wellig, farblos, oft silberartig glänzend, mit sehr starken Reflexen, durchzogen von feinsten mit einander anastomosierenden, wie eingeschnittenen Linien, welche meist vom Centrum nach der Peripherie hin gezogen sind. Die Structur ist sonst homogen. Später nimmt die Linienzeichnung mehr und mehr ab, der Reflex verschiebt sich mehr nach der Peripherie hin, so dass dieselbe wellig erhaben erscheint.

Die Structur wird besonders in der Mitte fein- bis grobkörnig, bis sie endlich einer gelbgraubräunlichen, undurchsichtigen Zeichnung weicht, die in vielen Fällen an Hahnenfusstritte erinnert. Dies trifft, wie gesagt, nicht immer zu; so hatten einige Colonien derselben Cultur die hahnenfusstrittähnliche Zeichnung, andere nicht. Letzteres ist neuerdings hier im Institut auch bei anderen Bakterien beobachtet worden. Auf mehreren Platten zeigten sich bei den Colonien vom Centrum nach dem Rande hin flammen- und lockenartige, sternförmige Zeichnungen, die aber bei älteren Culturen wieder verschwanden. Ueberhaupt liess sich in dem inneren Wachsthum der Colonien eine solche Variabilität der Form constatiren, dass der ungeübte Beobachter oft an 2 verschiedene Arten hätte denken können.

Im Innern liegende Colonien: Kleinste, gelbliche, punktförmige Gebilde. Schwach vergrössert, erscheinen sie rund bis rundlich, glattrandig, hellgelb, sehr fein granulirt, später mit

etwas größerer Structur, zuweilen auch mit einem oder mehreren concentrischen Ringen versehen.

Gelatine sauer: Wachsthum ebenso, aber langsamer und weniger üppig.

Agarplatte alkalisch. Oberflächliche Colonien: Makroskopisch: Rundlich, saftig glänzend, zum Theil ziemlich erhaben, graugelblich bis grauweisslich.

Schwache Vergrößerung: Rundlich, fast oder ganz glattrandig, anfangs hellgelblich durchscheinend, später graugelb bis gelbbraunlich, undurchsichtig. Die Structur ist theils homogen, theils zart- bis grobgranulirt, ja es ist sogar sehr charakteristisch, wenn in späteren Stadien eine, wie aus kleinen Läppchen bestehende, sehr grobe Granulirung, die sogenannte Morulaform, auftritt.

Auch bei diesen Agarcolonien ist die Variabilität eine sehr grosse.

Innenliegende Colonien: Rundlich bis wetzsteinförmig zugespitzt, gelb. Schwache Vergrößerung: der Rand ist fast immer glatt, zuweilen höckerig. Die Färbung erscheint gelb bis bräunlich. Structur fein bis grob granulirt. Gewöhnlich in älteren Stadien höckerig knollig. Abgesehen von diesen finden sich ab und zu auch rundlich bis unregelmässig gestaltete, gelbliche, zusammenhängende, sogenannte Sekundärcolonien, welche wunderliche Gebilde vorstellen, die zum Theil an die Gestalt von Infusorien erinnern.

B. Stich- und Strichculturen.

Gelatine-Stichcultur: Stichkanal: Anfangs fadenförmiges Wachsthum, später gewöhnlich perlschnurartig.

Oberfläche: Grauweisslicher, unregelmässig zackig gewellter Belag, durchscheinend mattglänzend, cf. Gelatineplatte.

Agar-Stichcultur: Stichkanal: Uncharakteristisch fadenförmiges Wachsthum, später ein wenig granulirt, weisslich, zuweilen Gasbläschen bildend.

Oberfläche: Ueppiger, saftig glänzender, grauweisser Belag, der schon nach 24 Stunden bei 37° die Oberfläche vollständig bedeckt. Consistenz butterartig schleimig.

Agar-Strichcultur: Ueppiger, grauweisslicher Belag, wellig glattrandig, saftig glänzend. Im durchfallenden Lichte bläulich. Condenswasser mässig getrübt. Bodensatz weissgelblich.

C. Kartoffel- und Bouillonculturen.

Kartoffelcultur: Hellgelber, wellig glattrandiger Belag, anfangs wenig, später stark erhaben, mattglänzend, von butterartiger Consistenz. Im späteren Stadium wird die Colonie gewöhnlich saftiger und nimmt eine bräunlich gelbe Farbe an.

Bouilloncultur: Schwach bis mässig getrübt: am Glasrande Anlage zur Häutchenbildung auf der Oberfläche. Bodensatz anfangs mässig, bei längerem Stehen bedeutender, gelblich weiss. Beim Schütteln zertheilt er sich leicht, indem er sich vorher säulenartig aufwickelt.

Mikroskopischer Befund bei $\frac{1200}{1}$: Das Bacterium stellt ein kleines, abgerundetes Kurzstäbchen dar, 0,8 bis 2,4 μ lang und 0,4 bis 0,6 μ breit, zuweilen zu Fäden auswachsend. Im hängenden Tropfen zeigt es eine rege Eigenbewegung, welche durch vier bis acht Geisseln hervorgebracht wird; dieselben erreichen die drei- bis fünffache Länge des Bacterium.¹⁾ Dasselbe lässt sich mit allen Anilinfarbstoffen färben, aber nicht nach Gram, oder höchstens schwach. Der Organismus ist facultativ anaërob und wächst sehr schnell.

III. Die Leistungen des Bacterium.

Das Bacterium vermag alle, mir zur Zeit zur Verfügung stehenden Zuckerarten zu vergähren. Dasselbe wurde bei 22° in Fleischbouillon, die mit Maltose, Lactose, Dextrose in 2% Lösung versetzt war, geimpft; jedesmal trat schon nach 1—2 Tagen eine rege Gasentwicklung ein, die ihren Höhepunkt nach 5 bis 6 Tagen erreichte, dann abnahm und nach dem 8. bis 10. Tage ganz aufhörte.

1) Vergl. Atlas und Grundriss der Bacteriologie von Prof. Dr. K. B. Lehmann und Dr. R. Neumann, München 1896, Tab. 14, Fig. X.

Bekanntlich enthält fast jede Fleischbouillon Spuren von Zucker. Um den exacten Nachweis von Milchzuckervergähmung liefern zu können, wurde auf Vorschlag des Herrn Professors Dr. Lehmann das Bacterium auf einem mineralischen Nährboden¹⁾, der mit 2% Milchzucker versetzt war, geimpft. Deutliche Gähmung trat schon nach 24 Stunden ein.

Ich beobachtete gleichzeitig, dass die Cultur infolge mehrmaliger Uebertragung aus ausgegohrener in frische 2% ige Traubenzuckerbouillon ihre Gähmungsfähigkeit allmählich einbüsste und durchschnittlich nicht öfter wie viermal hintereinander die Gähmung vollenden liess.

Zu näheren Studien über die Säurebildung bediente ich mich zunächst eines aus Weisskrautbrühe bereitete Nährbodens.

Es wurde zu diesem Zwecke eine Weisskrautabkochung im Verhältnis von 1:2 hergestellt, der ein Kochsalzzusatz von 0,5% gegeben wurde.

Diese Krautbrühe wurde mit Gelatine, Agar etc. in den üblichen Verhältnissen versetzt, und diese Nährböden mit Reinculturen des Bacterium geimpft, zu Plattenculturen verwendet.

Auf Krautgelatine wuchs dasselbe anfangs gar nicht und musste, wenn dies geschehen sollte, dieser ein 0,5 proc. Peptonzusatz gegeben werden. Das Wachsthum war auch dann im Allgemeinen ein langsamerer als auf Fleischpeptongelatine, dagegen auf Krautzuckeragar selbst ohne Pepton ein reges, und zwar mit Gasentwicklung verbundenes.

Als besonders charakteristisch sei hervorgehoben, dass bei Plattenaussaaten und Stichculturen nach einigen Tagen ein deutlicher Geruch nach Sauerkraut auf dem Krautnährboden auftrat. Allerdings fehlte demselben das Aromatische, Esterartige des frisch vergohrenen Krautes, dagegen war ein deutlicher, anfangs essigsäureartiger Geruch bemerkbar²⁾; je höher der Säuregrad stieg, umso unangenehmer wurde derselbe und es

1) Bezüglich der Zusammensetzung des mineralischen Nährbodens verweise ich auf S. 32.

2) Nach E. Reichardt, »milchsäureartiger Geruch«.

dürfte deshalb Kraut, das allein mit dem Bacterium vergohren ist, für den Genuss wenig einladend sein.

Um das Steigen des Säuregrades zu untersuchen, impfte ich das Bacterium auf 2% Zuckerbouillon und auf sterilisirte Weisskraut-Nährböden; dieselben wurden theils bei verschiedenen Temperaturen, theils, da das Bacterium ein facultativ anaërobes ist, aërob und anaërob aufbewahrt.

Der besseren Uebersicht halber habe ich die Versuche in Form von Tabellen aufgezeichnet und zwar:

Das Bacterium vergäht 2% Traubenzuckerbouillon

1. aërob bei 8°, 15°, 22°, 37°.
2. anaërob bei 22°.

(Siehe Tabelle I S. 13.)

Das Bacterium auf gekochtes Weisskraut geimpft, dem auf je 100 g Kraut 100 ccm Wasser und 0,5% Kochsalz zugefügt wurden.

1. aërob vergohren bei 37°.
2. aërob und anaërob vergohren bei 22°.

(Siehe Tabelle II S. 14.)

Aus diesen Versuchen sehen wir, dass vor allem auf die Säurebildung die Temperatur von hohem Einfluss ist.

Bei 8° und 15° Durchschnittstemperatur steigt der Säuregrad langsam innerhalb der ersten 6 Tage, erst dann wird die Steigerung stärker bis zum 17. Tage, von da ab lässt sie wieder nach. Bei 22° und 37° sind die Differenzen auch beträchtliche. Die Säuremenge steigt bei 22° am rapidesten vom 3.—9 Tage; dann schreitet dieselbe nur langsam vor. Anders ist es bei der Temperatur von 37°, hier wird die Hauptmenge der Säure vom 1.—6. Tage gebildet, vom 12. Tage ab kann eine Zunahme der Säure nicht mehr constatirt werden.

Die Menge der gebildeten Säure war bei aëroben und anaëroben Culturen im Wesentlichen die gleiche.

In Zuckerbouillon constatirte ich, selbst nach 6 wöchentlicher Dauer, nur einen Säuregehalt von 7 ccm, während im Weisskraut derselbe in 20 Tagen bis auf 10,2 ccm gestiegen war. Da in der Zuckerbouillon nach Bildung von 7 ccm Normalsäure

Tabelle I.

Säurebildung in 2% Traubenzuckerbouillon bei verschiedener Temperatur.
(Bacterium brassicae acidae [Lehmann und Conrad]).

Zeit	aërob bei 8°	aërob bei 15°	Geruch ¹⁾	aërob bei 22°	aërob Controlversuch	aërob bei 37°	anaërob bei 22°
nach 12 Std.	neutral						
am 1. Tage	100 cem = 0,1 cem norm. NaOH	100 cem = 0,3 cem norm. NaOH	do.	100 cem = 1,1 cem norm. NaOH	100 cem = 1,2 cem norm. NaOH	100 cem = 1,0 cem norm. NaOH	In den Exsiccator des- sen Boden mit, in Kali- lange gelöstem Pyro- gallo! ca. 2 cm hoch be- deckt war, wurde nach jedemaligen (öffnen Wasserstoff" hineinge- leitet, um die eingetret. Luft auszutreiben.
am 3. Tage	100 cem = 0,3 cem norm. NaOH	100 cem = 0,8 cem norm. NaOH	do.	100 cem = 2,5 cem norm. NaOH	100 cem = 2,6 cem norm. NaOH	100 cem = 5,3 cem norm. NaOH	100 cem = 2,5 cem norm. NaOH
am 6. Tage	100 cem = 0,8 cem norm. NaOH	100 cem = 1,5 cem norm. NaOH	schwach käseartig	100 cem = 4,5 cem norm. NaOH	100 cem = 4,6 cem norm. NaOH	100 cem = 6,5 cem norm. NaOH	100 cem = 4,3 cem norm. NaOH
am 9. Tage	100 cem = 1,5 cem norm. NaOH	100 cem = 3,2 cem norm. NaOH	do.	100 cem = 5,8 cem norm. NaOH	100 cem = 5,8 cem norm. NaOH	100 cem = 6,9 cem norm. NaOH	100 cem = 5,8 cem norm. NaOH
am 12. Tage	100 cem = 2,5 cem norm. NaOH	100 cem = 4,6 cem norm. NaOH	do.	100 cem = 6,4 cem norm. NaOH	100 cem = 6,3 cem norm. NaOH	100 cem = 7,1 cem norm. NaOH	100 cem = 6,4 cem norm. NaOH
am 17. Tage	100 cem = 3,8 cem norm. NaOH	100 cem = 6,0 cem norm. NaOH	stark käseartig	100 cem = 7,0 cem norm. NaOH	100 cem = 6,9 cem norm. NaOH	100 cem = 7,1 cem norm. NaOH	100 cem = 7,0 cem norm. NaOH
am 22. Tage	100 cem = 5,0 cem norm. NaOH	100 cem = 6,9 cem norm. NaOH	do.	100 cem = 7,2 cem norm. NaOH	100 cem = 7,1 cem norm. NaOH	100 cem = 7,1 cem norm. NaOH	160 cem = 7,2 cem norm. NaOH

1) Die Angaben betreffs des Geruchs in Traubenzuckerbouillon erstrecken sich nur auf die Temperaturen von 22 u 37°.

keine unzersetzten Kohlehydrate mehr nachgewiesen werden konnten, so muss angenommen werden, dass nur ein sehr kleiner Theil des Zuckers (etwa $\frac{1}{5}$) in Säure, der übrige in CO_2 und H_2 übergegangen ist. In der vergohrenen Weisskrautbrühe wurde der Nachweis auf unvergohrenen Zucker nicht geführt. Siehe S. 33.

Tabelle II.

(*Bacterium brassicae acidae* [Lehmann und Conrad]).

1. Säurebildung im Weisskraut ohne Zuckerzusatz bei 37°.

Nährboden: 100,0 sterilisirtes Weisskraut, 100 ccm Wasser, 0,5 Kochsalz, am Tage der Impfung: 100 ccm = 1,6 ccm norm. NaOH			
Zeit	Menge	Säuregrad	Geruch
nach 12 Stunden	100 ccm	2,1 ccm norm. NaOH	unverändert
am 1. Tage	100 „	2,8 „ „ „	angenehm säuerlich
„ 3. „	100 „	4,2 „ „ „	do.
„ 6. „	100 „	5,7 „ „ „	do.
„ 9. „	100 „	7,1 „ „ „	sauer
„ 12. „	100 „	8,1 „ „ „	stinkend
„ 17. „	100 „	9,3 „ „ „	do.
„ 22. „	100 „	10,2 „ „ „	do.

2. Säurebildung im Weisskraut ohne Zuckerzusatz bei 22°.

a) anaërob	b) aërob
Drei Proben nach acht Tagen titirt	
100 ccm = 3,8 ccm norm. NaOH	100 ccm = 3,8 ccm norm. NaOH
100 „ = 4 „ „ „	100 „ = 4,2 „ „ „
100 „ = 4,3 „ „ „	100 „ = 4,2 „ „ „

IV. Nähere Untersuchung der gebildeten Gase.

Was die Gährungsprodukte des *Bacterium* betrifft, so will ich zunächst auf die Untersuchung der Gase, dann der Säuren eingehen.

Um die Gase zu untersuchen, bereitete ich mir eine Weisskrautabkochung im Verhältniss 1:2; dieselbe wurde filtrirt und ein Liter Brühe mit 3% Traubenzucker und 0,5% Kochsalz

versetzt. Dies füllte ich in eine starkwandige Literflasche A, schloss dieselbe mit einem einmal durchbohrten Gummistopfen c, durch den ein knieförmig gebogener Kugelschluss a gesteckt der an seinem äusseren Ende mit einem Wattepfropf verschlossen war (siehe Abbildung S. 16.)

Ich sterilisirte den gefüllten Gährungskolben an drei aufeinanderfolgenden Tagen je eine Stunde im Dampftopf. Hierauf inficirte ich die Gährungsflüssigkeit mit einer Reincultur des neuen Bacterium, die ich mir in 5 ccm Zuckerbouillon gezüchtet hatte, um eine Masseninfection zu bewirken.

Die Infection geschah auf sehr einfache Weise, indem ich einen Wattepfropf mit Aether tränkte und damit vorsichtig den Flaschenhals und den äusseren Theil des Stopfens säuberte, dann rasch den Stopfen lüftete und die Bouillon hineingoss. Gleichzeitig wurde der Kugelschluss bis an die Kugel mit sterilisirtem Wasser gefüllt.

Stellt man nun die Gährungsflüssigkeit in den Brutofen bei 37°, so findet schon nach 2—3 Stunden eine starke Trübung statt und nach Verlauf von 12—14 Stunden beginnt die Gasentwicklung. Dieselbe steigert sich sehr rasch, besonders wenn die Bruttemperatur beibehalten wird, wird dieselbe äusserst stürmisch, so dass ich z. B. in 2 Stunden 100 ccm Gas erhalten konnte.

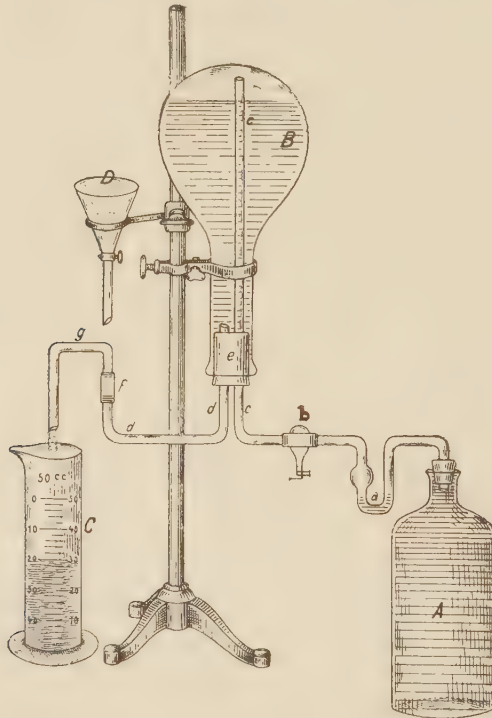
Je nach Bedarf kann man die Gasentwicklung regulieren, indem man die Temperatur erhöht oder erniedrigt. Allerdings ist dies auf die chemische Zusammensetzung der Gase nicht ohne Einfluss, wie ich später beweisen werde.

Die Reinheit der Gährungsculturen ist jedesmal nachträglich durch Anfertigung von mikroskopischen Präparaten und Platten-culturen constatirt worden.

Zur eigentlichen Gasanalyse sind die Apparate von W. Hempel (Gasanalytische Methoden von W. Hempel, 2. Aufl. Braunschweig 1890 und Lehrbuch der technischen Gasanalyse von C. Winkler, 2. Aufl. Freiberg 1892) benutzt worden. Die Gase sind einestheils durch directe Verbindung des Gährkolbens mit der Bürette, anderntheils durch Verbindung der Bürette mit

dem Gassammelapparat eingeleitet worden. Derselbe wurde von mir in folgender Weise construirt (siehe Abbildung).

Der Gassammelapparat besteht aus einem Rundkolben *B*, der durch einen zweifach durchbohrten Gummistopfen *e* geschlossen wird. In den Kolben gehen zwei Glasröhren *c* und *d*, wovon *c* bis unmittelbar an den Boden des Kolbens reicht, *d* dagegen mit dem Gummistopfen abschneidet. Beide Röhren haben an ihrem äusseren Ende kurze Gummischläuche, die zur



Verbindung dienen, *c* in *b*, gleichzeitig mit Quetschhahn, und *d* in *f*. Soll der Apparat gebraucht werden, so verbindet man *f* mit dem mit Hahn versehenen Glastrichter *D*, giesst Wasser hinein, das durch *d* in den Kolben *B* tritt und sämtliche Luft durch *c* her austreibt. Wenn alle Luft entfernt ist, schliesst man das Rohr *c* mittels des Quetschhahnes. Hierauf entfernt man den Trichter *D*, setzt dafür das u-förmig gebogene Glasrohr *g* auf, das gleichzeitig in den Messcylinder *C* reicht.

Sobald nun die Gährung beginnt, verbindet man den Gährkolben *A* mit dem Rohr *c*, öffnet den Quetschhahn, die Gasbläschen steigen in das Kugelrohr *a*, treiben das im unteren Theil des Rohres befindliche Wasser in die Kugel, gehen durch dasselbe und das Wasser fliesst wieder in den unteren Theil des Rohres zurück. Die Gasbläschen steigen weiter durch Rohr *c* in den Kolben *B*, das durch dieselben verdrängte Wasser fliesst in den Messcylinder *C*.

Ist genügend Gas entwickelt, was der Messcylinder *C* zu jeder Zeit anzeigt, so schliesst man zunächst die Verbindung zwischen *c* und *a*, entfernt das Rohr *g* vorsichtig, setzt dafür den Trichter *D* auf und füllt zuerst mit wenig Wasser, bis etwaige, dem Trichterrohre adhärende Luftbläschen verschwunden sind — durch leichtes Klopfen der Glaswandungen wird dies beschleunigt, — füllt dann den Trichter mit Wasser an, und verbindet Rohr *c* mit der Hempel'schen Gasbürette.

Um jegliches Eindringen von Luftbläschen zu verhindern, öffnet man den Hahn des Trichters *D* nur wenig, so dass der Gasaustritt ein ganz allmählicher ist. Das Kugelrohr *a* des Gährkolbens *A* schliesst man einstweilen mit einem Wattepfropf.

Der Apparat hat sich für die Praxis als praktisch in jeder Weise bewiesen:

1. ist derselbe leicht zusammenzustellen und zu handhaben,
2. bietet derselbe für die Analyse insofern Vorthelle, als man zu jeder Zeit aus der durch die verdrängte, im Messcylinder befindlichen Wassermasse ersehen kann, wie viel Gas entwickelt worden ist,
3. hat man ein verhältnissmässig constantes Gasgemisch, da man immer wieder das mit dem eingeleiteten Gase gesättigte Wasser zum Auffüllen benutzen kann.

Ein beliebiges Gasvolum wird in die Gasbürette übergeführt und diese in bestimmter Reihenfolge mit den Gaspipetten verbunden, die die geeigneten Gasabsorptionsmittel enthalten. Als solche habe ich benutzt:

für Kohlensäure: 25 % Kalilauge,

für Sauerstoff: Pyrogallussäure in Kalilauge gelöst.

Wasserstoff ist mit Luft vermengt unter Vermittlung von schwach erhitztem Palladiumasbest zu Wasser verbrannt worden; Methan wurde mit reinem Sauerstoff vermischt in Drehschmidt's Platincapillare zu Kohlensäure und Wasser verbrannt, den nicht absorbirbaren Gasrest habe ich als Stickstoff angenommen und bei der Berechnung weggelassen, da stets daneben soviel Sauerstoff gefunden wurde, als die Zusammensetzung der atmosphärischen Luft erfordert.

Da die Bildung von Methan durch einen Mikroorganismus (aus der Verwandtschaft des *Bacterium coli*) zum ersten Male nachgewiesen wurde¹⁾, will ich den exacten Nachweis desselben ausführlicher behandeln.

Wie oben erwähnt, wird aus dem Gasgemisch zuerst die Kohlensäure entfernt, dann der Sauerstoff. Bevor ich die Verbrennung des Wasserstoffes vornahm, prüfte ich die hinzugefügte Luftmenge — ca. die dreifache Menge des Gasrestes — jedesmal auf Kohlensäure. Der normale Kohlensäuregehalt der Luft ist 0,03%.

Hierauf wurde das Gasgemisch mehrere Male durch das schwach erhitze Capillarrohr, das den Palladiumasbest enthält, geleitet. Die Verbrennung ging sehr prompt vor sich. Um zu controlliren, ob nicht noch Reste von Wasserstoff, die vielleicht aus Mangel an Sauerstoff nicht hätten verbrennen können, in demselben enthalten wären, prüfte ich hierauf auf Sauerstoff und erhielt regelmässig einige Cubikcentimeter Ueberschuss von Sauerstoff.

Bevor ich dies jedoch vornahm, untersuchte ich den Gasrest auf Kohlensäure, da ich einige Male beobachtete, dass bei zu starker Erhitzung des Palladiumasbests und bei gleichzeitigem zu grossem Ueberschuss an Sauerstoff Explosionen stattfanden, offenbar, weil gleichzeitig eine Verbrennung des Methans vor sich ging.

Unterlässt man diese Kohlensäurebestimmung, so verliert man einen Theil des Methans, da bei der Sauerstoffabsorption die Kohlensäure mitgebunden wird.

1) Vergl. Atlas und Grundriss der Bacteriologie und Lehrbuch der speciellen bacteriologischen Diagnostik von Prof. Dr. K. B. Lehmann und Dr. R. Neumann, München 1896, Bd. II, S. 85.

Sonst bietet der Nachweis von Methan keine Schwierigkeiten, da die Verbrennung in Drehschmidt's Platineapillare mit Sauerstoff sehr exact vor sich geht.

Die Berechnung des Methans erfolgte;

1. Durch Division der die Verbrennung begleitenden Contraction durch 2;
2. durch Absorption der bei der Verbrennung entstandenen Kohlensäure, deren Volumen demjenigen des Methan gleich ist;
3. durch Division der nach erfolgter Verbrennung und Kohlensäureabsorption eintretenden Volumenverminderung durch 3.

Diese drei Ergebnisse müssen übereinstimmen.

Geringe Spuren von Schwefelwasserstoff wurden durch Bleiacetatpapier nachgewiesen, quantitativ, auf titrimetrischem Wege konnte derselbe nicht bestimmt werden. Als Sperrflüssigkeit benützte ich Wasser und zwar möglichst die gleiche gesättigte Menge immer wieder. Die Ansichten darüber, ob man Wasser oder Quecksilber benützen soll, sind verschieden. So führt Wolffin¹⁾ über das Variiren der Kohlensäure- und Wasserstoffzahlen an, dass die Gase in verschiedenen Verhältnissen vom Wasser des Gährkolbens absorbiert werden:

100 Vol. Wasser absorbiren bei 760 mm Druck und bei Temperaturen von

	O	N	H	CO ₂
0° =	4,11	2,03	1,93	179,7
10° =	3,25	1,61	1,93	118,5
20° =	2,84	1,40	1,93	90,1

Volumen Gas bei 0° A und 760 mm B.

Dieser Behauptung von Wolffin, die im Allgemeinen richtig ist, möchte ich doch nicht so grosse Bedeutung bei dem Resultate der Analyse beimessen, da nach meiner Beobachtung das Variiren der Kohlensäure- und Wasserstoffmengen vielmehr

1) Wolffin, Bacteriologische und chemische Untersuchungen über Sauerteiggährung, Würzburg 1894.

von der Temperatur, in der das Gas entwickelt wird, abhängt, da dieselbe ausserordentlich auf die Verhältnisszahl des Kohlensäure- und Wasserstoffgemisches einwirkt. Ich habe über 20 Versuche angestellt, deren Resultat obiges Ergebniss ist, und zwar wurde der Gährungskolben das eine Mal in ein Wasserbad, das die constante Temperatur von 20°, und ein zweites Mal in ein Wasserbad gestellt, das die constante Temperatur von 35° hatte. Die Gase wurden der Controlle halber theils unmittelbar in die Hempel'sche Bürette, theils vorher in den Gassammelapparat geleitet, aber der in Folge hievon gefundene Unterschied in der Zusammensetzung erwies sich, wenn die Gase bei der gleichen Temperatur gewonnen waren, als ein minimaler, im Verhältniss zum Unterschied der bei verschiedenen Temperaturen entwickelten.

Auch möchte ich die Worte von W. Hempel¹⁾ anführen:

»Die Genauigkeit, welche unter Anwendung der oben beschriebenen Apparate bei einfachen Absorptionen auch bei Analysen über wässerigen Flüssigkeiten erreicht werden kann, ist eine so grosse, dass sie den vollständig exacten Bestimmungen über Quecksilber nur wenig nachsteht, auf alle Fälle auch die grösseren Forderungen, welche die Technik an den Chemiker stellt, vollständig befriedigt.«

In gleichem Sinne spricht sich auch Winkler²⁾ aus.

Wie schon erwähnt, wurden die Gährungsgase bei zwei verschiedenen Temperaturen entwickelt und müssen wir die Analysen in zwei Abtheilungen teilen:

- a) 3% Traubenzucker enthaltende Weisskrautbrühe, vergohren bei 20° C. Durchschnittstemperatur;
- b) 3% Traubenzucker enthaltende Weisskrautbrühe, vergohren bei 35° C. Durchschnittstemperatur.

Von jedem Gährversuch wurden vier vergleichende Gasanalysen ausgeführt, aus diesen dann die hier mitgetheilten Durchschnittsanalysen berechnet.

1) W. Hempel, Gasanalytische Methoden, Braunschweig 1890, S. 89.

2) Winkler, Lehrbuch der technischen Gasanalyse, Freiburg 1892, S. 3 und 33.

**a) Analysen des Gasmisches bei 20° C. vergohren, auf 100 Volumen-
Procent berechnet:**

Nummer der Gährversuche:	I	II	III	IV
Kohlensäure	74,74	73,94	72,17	70,46
Wasserstoff	22,98	23,47	24,90	26,46
Methan	2,28	2,59	2,93	3,08

**b) Analysen des Gasmisches bei 35° C. vergohren, auf 100 Volumen-
Procent berechnet:**

Nummer der Gährversuche:	I	II	III	IV
Kohlensäure	85,45	85,72	85,86	85,21
Wasserstoff	13,70	13,42	13,15	13,75
Methan	0,85	0,86	0,99	1,04

Durchschnittsanalyse von a (nach oben abgerundet):

Kohlensäure	73 Vol.-Proc.
Wasserstoff	24 „
Methan	3 „

Durchschnittsanalyse von b (nach oben abgerundet):

Kohlensäure	85 Vol.-Proc.
Wasserstoff	14 „
Methan	1 „

Hieraus sehen wir, dass ganz bedeutende Differenzen zwischen den beiden Gasmischen existiren. Auffällig ist, dass der Kohlensäuregehalt des Gasmisches bei niedriger Temperatur niedriger, bei erhöhter Temperatur höher ist, während der Wasserstoff- und Methangehalt sich umgekehrt verhalten. Woher dies rühren kann, ist augenblicklich nicht zu erklären, da der physiologische Vorgang der Gährung nach dieser Richtung noch nicht erforscht ist.

V. Untersuchung der gebildeten Säuren.

Was die weitere Untersuchung der Gährungsproducte anbelangt, so nahm ich Sauerkrautbrühe in Arbeit, und zwar von Kraut, welches sich seit circa 14 Tagen in Gährung befand und einen Säuregrad von 4 ccm Norm. Na OH in 100 ccm aufwies. Es entspricht dies einem Säuregehalt von 0,36 % auf Milchsäure berechnet.

Es wird durchschnittlich dieser Zeitpunkt von den Sauerkrautfabrikanten gewählt, weil dann gewöhnlich das erste Stadium der Gährung vorüber ist.

Die Brühe wird entfernt und frisches Wasser nachgegossen. Das Kraut hat einen lieblichen, angenehm säuerlichen Geruch, wird aber für den Consum noch nicht abgegeben.

Ich nahm circa 3 l in Arbeit. Zuerst wurde die Masse mit kohlensaurem Natron neutralisirt, hierauf 500 g der Destillation unterworfen, um etwaige Mengen vorhandenen Alkohols zu gewinnen. Das Destillat wurde mehrmals rectificirt und Aethylalkohol mittels der Jodoformreaction nachgewiesen. Ohne Erfolg wurde auf Aldehyde, Aceton und Mercaptane geprüft.

Auf Aldehyde wurde geprüft durch Zusatz einer Lösung von saurem, schwefligsaurem Natrium. Auf Aceton mittels einer Lösung von Sublimat, der eine alkoholische Aetzkalilösung bis zur alkalischen Reaction zugesetzt, stark umgeschüttelt und filtrirt wird. Schichtet man über das Filtrat Schwefelammon, ohne umzuschütteln, so zeigt sich an der Grenze der Flüssigkeiten Schwarzfärbung, wenn Aceton zugegen ist.¹⁾

Auf Mercaptane mittels Cyanquecksilber.²⁾ Die übrige Masse wurde zunächst auf den dritten Theil des Volumens eingedampft, mit Schwefelsäure angesäuert und mittels Wasserdämpfen destillirt. Auf diese Weise gewann ich die flüchtigen Säuren, während die nichtflüchtigen im Destillationsrückstande blieben.

Die Destillation dauerte gewöhnlich 6—8 Stunden, da niemals ein ganz neutral übergehendes Destillat resultirte, sondern stets eine schwach saure Reaction vorhanden war.³⁾

In Arbeit genommen: 3000,0 Brühe,

Mit Wasserdämpfen destillirt	I. Destillat der flücht. Säuren 300,0 verbrauchen 10 ccn = 22,3 ^{1,10} norm. NaOH									
	II.	»	»	»	300,0	»	10	»	= 12	»
	III.	»	»	»	300,0	»	10	»	= 7	»
	IV.	»	»	»	300,0	»	10	»	= 4,6	»
	V.	»	»	»	300,0	»	10	»	= 3,5	»
	VI.	»	»	»	300,0	»	10	»	= 2,5	»
	VII.	»	»	»	200,0	»	10	»	= 1,0	»

1) Hoppe-Seyler, Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse, 6. Aufl., Berlin 1893.

2) Nenki und Sieber, Zur Kenntniss der bei der Eiweissgährung auftretenden Gase. Chem. Centralblatt, 1889.

3) Vergl. K. B. Lehmann, Qualitative und quantitative Studien über den Säuregehalt des Brodes, Hyg. Archiv, Bd. XIX.

also pro 100 cem ursprüngliche Sauerkrautbrühe 1,7 $\frac{1}{10}$ Normal-säure, d. h. noch nicht 5 % der Gesamtsäure. Behufs Trennung dieser flüchtigen Säure wandte ich die Methode von E. Wein ¹⁾ an.

Das aus circa 10 l eingeengter Sauerkrautbrühe erhaltene Destillat betrug 300,0; dasselbe wurde mit Barytwasser gesättigt und die Lösung der Barytsalze der flüchtigen Fettsäuren bis beinahe zur Trockne eingedampft. Hierauf wurde die Salzmasse mit concentrirter Phosphorsäure zersetzt und man erhielt eine wässrige Schicht, enthaltend die Säuren der Ameisensäurereihe bis zur Buttersäure. Das Ergebniss war leider kein befriedigendes, da die Säuren im Destillate in zu geringer Menge vorhanden waren, so dass dieselben gleich am Anfange der Destillation mit den übergehenden Wasserdämpfen übergerissen wurden. Nur die Essigsäure konnte bei 119° aufgefangen werden, weil dieselbe am stärksten vertreten war. Ich konnte jedoch deutlich Ameisensäure nachweisen, und zwar geschah dies mittels salpetersaurem Silber oder mit Sublimat, wobei sich beim Kochen einestheils metallisches Silber, andernteils metallisches Quecksilber abschied.

Die Essigsäure und die Buttersäure konnten deutlich durch die betreffenden Ester nachgewiesen werden und zwar die Essigsäure durch Bildung von Essigäther auf Zusatz von Aethylalkohol und Schwefelsäure, die Buttersäure auf gleiche Weise durch Bildung des Buttersäure-Aethyläthers oder Ananasäther.

Den Destillationsrückstand der Sauerkrautbrühe habe ich mit Aether ausgeschüttelt, den Aether hierauf abdestillirt. Der Rückstand enthielt hauptsächlich Milchsäure.

Dass die Hauptmasse der Säure Milchsäure und zwar die optisch inactive Aethylidenmilchsäure ist, erwähnt E. Reichardt in seiner am Anfang citirten Arbeit. Ich kann das Gleiche bestätigen.

Um die dem Destillationsrückstand beigemischten Verunreinigungen an organischen Farbstoffen und Resten von flüchtigen Säuren zu entfernen, destillirte ich das Gemenge nochmals mit Wasserdämpfen und digerirte hierauf den Rück-

1) E. Wein, Ueber die im Butterfett enthaltenen Fettsäuren und ihre Trennung, Erlangen 1876.

stand, der nunmehr nur noch Milchsäure enthielt, 24 Stunden mit frisch geglühter Blutkohle. Hierauf wurde abfiltrirt und aus der fast farblosen Milchsäure das Zinksalz dargestellt.

Krystallwasserbestimmung von milchsaurem Zink.

Dasselbe krystallisirt mit 18,18% H_2O . Ich fand nach 24-stündigem Trocknen bei 100° :

		I.	
	27,8857		27,8857
Wägegl. Ta.	<u>27,5963</u>		<u>27,8335</u> nach dem Trocknen
	0,2894 g		0,0522 g = 18,04% H_2O .
		II.	
	23,525		23,525
Wägegl. Ta.	<u>22,944</u>		<u>23,420</u> nach dem Trocknen
	0,581 g		0,105 g = 18,08% H_2O .

Tabelle
Vergleichstabelle von *Bacterium acid*i

Name	Grösse	Beweglichkeit	Färbbar nach Gram	Geisseln	Aërobes u. anaërobes Wachsthum	Wachsthum-Intensität	Verflüssigung	Bouillon-Cultur		Milch-
								Häut- chen	Trü- bung	Coagu- lation
Bacter. acidilactici	Länge 0,6—2 μ Breite 0,4—0,6 μ	—	+	—	+	+	3	—	mässig	+
Bacter. coli	Länge 0,8—3,2 μ Breite 0,4—0,6 μ	+	—	eine und mehrere	+	+	3	—	mässig	+
Bacter. brassicae acidae	Länge 0,8—2,4 μ Breite 0,4—0,6 μ	+	—	4—8	+	+	3	mässig	schwach	+ erst nach 8 Tagen

VI. Vergleich des neuen Organismus (*Bacterium brassicae acidae*) mit anderen ähnlichen Bacterien.

Wenn man die gefundenen Resultate, sowohl die morphologischen als biologischen Eigenschaften des *Bacterium* zusammenfasst, so wird Jeder, der sich mit Bacteriologie eingehender

beschäftigt hat, zu der Ueberzeugung kommen, dass das Sauerkrautbacterium eine auffallende Aehnlichkeit mit dem Bacterium coli, weniger mit dem Bacterium acidi lactici (Hueppe) hat (vgl. untenstehende Tabelle III).

Nach dieser Zusammenstellung bestehen zwar gewisse Differenzen zwischen Coli und dem Sauerkrautbacterium, doch sind dieselben vom bacteriologischen Standpunkt aus betrachtet nicht so bedeutend als bei dem Bacterium acidi lactici. Die Hauptunterschiede einestheils zwischen Bacterium acidi lactici und dem neuen Organismus bestehen:

1. Bacterium acidi lactici zeigt keine Eigenbewegung, das Sauerkrautbacterium zeigt Eigenbewegung;

III.

lactici — coli commune — brassicae acidae.

Cultur	Sporenbildung	Farbstoffbildung	Gasentwicklung	Methan	Schwefelwasserstoffentwicklung	Säurebildung in 100 cem 2 ⁰ / ₀ Traubenzuckerbouillon nach 8 Tag.	Indolreaction	Wachstums-Intensität auf verschiedenen Nährböden ¹⁾			
								alkalisch 10NaOH : 1000,0	neutral	sauer 10 H ₂ SO ₄ + : 1000,0	sauer 20 H ₂ SO ₄ + : 1000,0
sauer	—	—	+	—	stark	4,6	stark	2	2	2	3
sauer	—	—	+	—	stark	4,0	stark	2	2	2	3
sauer	—	—	+	+	schwach	4,3	mittelstark	2	2	3	3

2. Bacterium acidi lactici hat keine Geisseln, das Sauerkrautbacterium hat Geisseln;

1) Vergl. Atlas und Grundriss der Bacteriologie und Lehrbuch der speciellen bacteriologischen Diagnostik von Prof. Dr. K. B. Lehmann und Dr. R. Neumann, München 1896, Bd. II, S. 40.

3. *Bacterium acidilactici* ist nach Gram färbbar, das Sauerkrautbacterium ist nicht nach Gram färbbar.

Vom *Bacterium Coli* andernteils bestehen die Hauptunterschiede nur in der Gasbildung. Bis jetzt hat man nur nachweisen können, dass dasselbe in zuckerhaltigen Nährböden

$\frac{3}{4}$ % Wasserstoff

$\frac{1}{4}$ % Kohlensäure

bildet, *Bacterium brassicae acidae* bildet bei 22°

$\frac{3}{4}$ % Kohlensäure

$\frac{1}{4}$ % Wasserstoff

und geringe Mengen Methan.

Ausserdem wächst *Bacterium coli* auf peptonfreien Krautnährböden mit und ohne Zuckerzusatz äusserst langsam und ist die Gährung eine sehr schwache — ich benützte zwei verschiedene gährungskräftige *Coli*¹⁾, das eine stammte aus der bacteriologischen Sammlung des hygienischen Instituts, das andere wurde aus Koth frisch isolirt —, während das Sauerkrautbacterium schon gewöhnliche Krautbrühe ohne Zuckerzusatz vergährt. Wir haben dasselbe einstweilen, um nicht zu präjudiciren, mit dem Namen *Bacterium brassicae acidae* (Lehmann und Conrad) bezeichnet. (*Brassica acidae* = Sauerkraut.)

Es wäre nun noch die Frage zu erörtern, ob nach dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse uns die angeführten Merkmale zwingen, *Bacterium coli* und *brassicae acidae* als wirklich verschiedene Arten anzusehen.

Ich glaube für diese Frage auf die von Herrn Prof. Dr. K. B. Lehmann inspirirten Darlegungen verweisen zu können, die Herr Dr. Wolffin über das Verhältniss von *Bact. coli* und *Bact. levans* gegeben hat. Ich halte es demnach für am erspriesslichsten, das *Bact. brassicae acidae* als eine Form der *Coligruppe* anzusehen.

1) Meine Angaben über *Bact. coli* beziehen sich natürlich nur auf die 2 Stämme, die ich untersucht habe.

2) Wolffin, Bacteriologische und chemische Untersuchungen über Sauerteiggährung, Würzburg 1894. Archiv f. Hygiene, Bd. XXI, S. 291.

Die Variabilität unter den Bakterien, speciell in der Coligruppe ist eine so grosse, dass es mir absolut nicht unmöglich scheint, das *Bacterium coli* durch längere Züchtungen auf geeigneten Nährböden dahin zu bringen, dass dasselbe Methan zu bilden im Stande ist; andererseits wäre es durchaus nicht auffällig, wenn das *Bacterium brassicae acidae* mit der Zeit die Fähigkeit einbüsste, auf Krautnährböden Methan zu bilden; viele Beispiele für die oft gewaltige Variabilität der Bakterien findet man in der bacteriologischen Diagnostik von K. B. Lehmann und R. Neumann, München 1896, und möchte ich an dieser Stelle nochmals darauf verweisen.

VII. Die Hefen des Sauerkrauts.

Wie Anfangs erwähnt, fanden sich neben den Bakterien zahlreiche Hefepilze, von denen zwei verschiedene Arten in jeder neu vergohrenen Weisskrautprobe immer wieder auftraten und als constante Begleiter des *Bact. brassicae acidae* auffallen mussten. Sie wurden als Reinculturen isolirt; ihre morphologischen Eigenthümlichkeiten sind in Folgendem niedergelegt:

A. Runde Hefe des Sauerkrauts.

Plattenculturen auf Bierwürzgelatine: Makroskopisch: Rein weiss, stark erhaben, saftig glänzend, rundlich. Innenliegende Colonien rundlich bis wetzsteinförmig.

Mikroskopisch, 60fache Vergrösserung. Tiefliegende Colonien: Rundlich, unregelmässig gebuchtet und gelappt, stark körnig, braungelb, zum Theil ausgesprochen morulaartig. Am Rand durchscheinender. Die Peripherie mit gezacktem und behaartem Saum versehen, welcher den einzelnen Hefesprosszellen entspricht. An manchen Stellen findet ein Auswachsen des Stammes zu ährenartigen Fortsätzen statt.

Aufliegende Colonien: Unregelmässig rundlich, glattrandig, braungrau, undurchsichtig, homogen, ohne Zeichnung oder schwach punktirt.

Plattenculturen auf Pflaumendecoctgelatine: Ebenso, nur findet spärlicheres Wachsthum statt.

Zuckeragar: 60fache Vergrösserung. Tiefliegende Colonien: Unregelmässig geformt, grauschwarz, glattrandig, undurchsichtig, ohne Struktur.

Aufliegende Colonien: An der Oberfläche zarte durchscheinende Auflage, graubräunlich, fast glattrandig, grobgranulirt, entsprechend den einzelnen Hefezellen.

Kartoffelcultur: Reinweiss, stark erhaben, an den Rändern steil abfallend, saftig glänzend, üppiges Wachsthum.

Bierwürze: Fast klar, Bodensatz grau, mässig stark, Cohärenz schleimig, schwach.

Stichcultur auf Bierwürzelatine: Weiss, saftig glänzend, stark erhaben, im Querschnitt nagelkopfförmig.

Mikroskopische Gestalt: Auf den verschiedenen Nährböden variiren die einzelnen Zellen ziemlich bedeutend, doch kann man überall die specifisch runde Form erkennen.

B. Lange Hefe des Sauerkrauts.

Plattenculturen auf Bierwürzelatine: Makroskopisch: Unregelmässig rundliche, scharf von der Umgebung abgegrenzte Colonien, schmutzig blassgelbgrau, kaum oder nicht erhaben, am Rande durchscheinend, im Centrum etwas dicker, undurchsichtig. Matt, glanzlos, Peripherie krümelig bis lappig.

Mikroskopisch: 60fache Vergrösserung. Tiefliegende Colonien: Um einen gelbbraunen undurchsichtigen Mittelpunkt herum entstehen zahllose, aus zusammenhängenden Hefesprosszellen gebildete dünne Fäden, welche fast gleichlang ein wunderhübsches Bild eines vielstrahligen Sternes abgeben. Bei etwas älteren Colonien erhalten die längeren Fäden noch seitliche Abzweigungen, so dass die Strahlen aus kleinen Aehren zu bestehen scheinen.

Aufliegende Colonien: Erreichen die tiefliegenden Colonien die Oberfläche, dann wird die mittlere Zone undurchsichtig, bräunlich, und um die Peripherie herum entsteht eine lappig gewellte, stark granulirte, durchscheinende Zone, welche mit dem Alter an Grösse zunimmt.

Die Platte verbreitet einen, nach gestandenem, eingetrockneten Bier erinnernden Geruch.

Plattencultur auf Zuckeragar. Makroskopisch: Dünne, rundliche, schleierartige Auflagerungen, durchscheinend, weisslichgrau, in der Mitte ein hellerer Punkt.

60fache Vergrösserung: Tiefliegende Colonien: Rundlich bis oval, grauschwarz, undurchsichtig, glattrandig. Später wachsen an der Peripherie einzelne Sprossverbände in Form von kleinen Bäumchen aus, welche schliesslich die ursprüngliche Colonie vollständig umgeben.

Aufliegende Colonien: Grosse rundliche, sehr zart durchsichtige Scheiben, glattrandig, grauweisslich, von einzelnen, aneinandergelegenen Hefezellen, grob punktirt. Die ursprüngliche Colonie in der Mitte ist genau so beschaffen wie eine tiefliegende.

Kartoffelcultur: Schmutzig gelblichweisser Belag, kaum erhaben, saftig glänzend, von schleimig-schleierigem Aussehen.

Stichcultur auf Bierwürzelatine: Gelblichgrauer, trockener, glanzloser Belag, stark erhaben, nach den Rändern steil abfallend und mehr graugelb, krümelig.

Bierwürze: Bildung einer Kahlhaut nach 2—3 Tagen. Flüssigkeit getrübt, Bodensatz fest, gelblichweiss. Beim Aufschütteln leicht zertheilbar.

Mikroskopisches Bild: Auf verschiedenen Nährböden variirt sowohl die Länge wie die Dicke der Zellen, doch bleibt immerhin das Gesamtbild einer langgestreckten Hefe bestehen.

Aus den vorliegenden Untersuchungen ergibt sich, dass die zwei gefundenen Hefearten in ihren morphologischen Eigenschaften weit von einander abweichen und als verschieden von einander angesehen werden müssen.

Um ihre Zugehörigkeit zu bekannten Arten festzustellen, wurden sie mit zwei im hygienischen Institut genau untersuchten Arten verglichen und dabei gefunden, dass die »lange Hefe« zu der Gattung *Saccharomyces cerevisiae*, die »runde Hefe« zu der Gattung *Saccharomyces minor* gehören, siehe anliegende Tab. IV S. 30.

Eingehendere Studien über die natürliche Verwandtschaft der neugefundenen mit Schwesterarten habe ich auszuführen für überflüssig gehalten, da dies einestheils für die Bedeutung der Frage keinen besonderen Werth hat und andererseits, weil es nach dem Stande der Kenntniss der Hefearten noch zu den schwierigsten Aufgaben gehört, systematologisch neugefundene Arten zwischen nahe verwandte einzureihen.

VIII. Einwirkung der Hefen mit den Bakterien zusammen auf die Vergärung des Weisskrautes.

Nachdem wir den Einfluss des *Bact. brassicae acidae* auf die Säurebildung und die sonstigen Veränderungen im sterilisirten Weisskraut studirt, war nur noch zu versuchen, wie weit der Zusatz von Hefe den Gährprocess beeinflusst. Leider erlaubte es meine Zeit nicht, die Fragen so eingehend zu studiren, wie ich es gewünscht hätte, immerhin dürften aber die folgenden Beiträge einen gewissen Werth beanspruchen.

Zuerst stellte ich einige Versuche über die Vergärung von Zuckerbouillon mit *Bact. brassicae acidae* + Hefe an. Zum Vergleich seien nochmals die Zahlen citirt von Tabelle I Vergärung von Zuckerbouillon mit *Bact. brassicae acidae* allein. Temperatur 22°. (Fortsetzung auf S. 31).

	Bierwürzelatineplatte	Pflaumendeocot- gelatineplatte	Zuckeragar- platte	Kartoffel- cultur	Bierwürz- gelatine- strichcultur	Bierwürze	Größenverhält- nisse: Culturen in Bierwürze gezücht. Zellen vom Boden- satz entnommen
Bierhefe Stamm VI. Dr. Will München.	Makroskop.: Schmutzig- weiss bis gelblich, saftig erhaben. Mikroskop.: 60 f. Rundlich undurchsicht. Rand krüme- lig, braungelb. Geruch nach eingetrock. Bier.	Makrosk.: Wie auf Bierwürze. Mikroskop.: Eisenso.	Makrosk.: Grau- weiss, schleier- artig, nicht er- haben. Mikr.: Zarte Anlage, mittel- grob körnig.	Schmutzig, weiss- gelb, saftig, stark erhaben.	Gärung nach 3 Tagen bei Zimmertemperatur.	Schwach trübe, starke Gasentwicklung, Bodensatz gelblichweiss	Länge: 7—8 μ . Breite: 2—3,5 μ .
Lange Hefe aus dem Sauerkraute.	Makroskop.: Gelblichgrau, mat, Rand durchscheinend. Mikroskop.: Strahlenkranz, gelblich, brauner Mittel- punkt, aufliegend m. lappig- buchtigem Rande. Geruch: Wie oben.	Makroskop.: würze.	Makr.: Kleiner wie auf Bierw. Mikrosk.: fast glattrand, Rand durchschein., grobkörnig. Ger.: Esterartig	Schmutzig, weiss- gelb, saftig, schwach erhaben.	Gelbgrau, trocken, stark erhaben.	Schwach trübe, Boden- satz weiss- gelb, Rahm- haut nach 3 Tagen bei Zimmertemp.	Länge: 7—9 μ . Breite: 2 μ .
Teighefe aus Sauerteig Würzburg (Saccharo- myces minor Engel).	Makroskop.: Weiss, mat, lappiger Rand. Mikroskop.: Dunkelbraun, Randzone heller, buchtig gelappt. Geruch: Esterartig, blumen- artiger Duft.	Makr.: Wie auf Bierwürze, aber kleiner. Geruch: Wie Bierhefe.	Makrosk.: Wie auf Bierwürze. Mikr.: Zarte Anlage, glatt- rand, krümelig.	Schmutzig weiss, stark erhaben, saftig oder trocken.	Weiss, saftig, erhaben.	Schwach, trübe, Boden- satz grau, Anlage zur Rahmhaut nach 5 Tagen.	Länge: 1,6—4 μ Breite: 1,6—3 μ .
Runde Hefe aus Sauerkraut.	Makroskop.: Weiss, saftig, erhaben. Mikroskop.: Wie Teighefe. Geruch: Wie Bierhefe.	Makrosk.: Wie auf Bierwürze, aber kleiner. Geruch: Wie Bierhefe.	Makrosk.: Wie auf Bierwürze. Mikr.: Zarte Anlage, glatt- rand, krümelig.	Reinweiss, saftig, stark erhaben.	Weiss, saftig erhaben.	Fast klar, Bodensatz grau.	Länge: 1,5—3,5 μ . Breite: 1,5—3,5 μ .

a) Bacterium allein: (vergl. S. 13).			Bacterium und Hefe (siehe auch Tabelle V).		
1. Tag	100 ccm	= 1,1 ccm	1. Tag	100 ccm	= 1,5 ccm
3. „	100 „	= 2,5 „	3. „	100 „	= 2,5 „
6. „	100 „	= 4,5 „	6. „	100 „	= 4,5 „
9. „	100 „	= 5,8 „	9. „	100 „	= 5,4 „
12. „	100 „	= 6,4 „	12. „	100 „	= 5,4 „
17. „	100 „	= 7,0 „	16. „	100 „	= 5,4 „
22. „	100 „	= 7,2 „	20. „	100 „	= 5,4 „

Tabelle V.

Säurebildung des Bacteriums mit den beiden Hefen geimpft bei 22°.

Zeit nach dem	Reaction auf Zucker	Säuremenge = Normal-natronlauge
a) in 2°/o Traubenzuckerbouillon:		
I. Tage	+	100 ccm = 1,5 ccm
III. „	+	100 „ = 2,5 „
VI. „	+	100 „ = 4,5 „
IX. „	verschwunden	100 „ = 5,4 „
XII. „	„	100 „ = 5,4 „
XVI. „	„	100 „ = 5,4 „
XX. „	„	100 „ = 5,4 „
b) in sterilisirtem Weisskraut, dem 100 ccm Wasser und 0,5% Kochsalz zugegeben wurden:		
I. Tage	+	100 ccm = 2,8 ccm
III. „	+	100 „ = 4,1 „
VI. „	+	100 „ = 5,8 „
IX. „	+	100 „ = 7,3 „
in einigen Proben verschwindend		
XII. „	+	100 „ = 8,3 „
ebenso wie am IX.		
XVI. „	+	100 „ = 9,3 „
ebenso wie am IX.		
XX. „	+	100 „ = 10,3 „
ebenso wie am IX.		

Der Versuch ergibt, dass bis zum neunten Tage die Säuremenge in beiden Fällen fast gleichmässig ansteigt, dann aber nur in der Bouillon mit Bacterium brassicae allein noch weiter zunimmt, im anderen Versuch dagegen constant bleibt.

Es dürfte das wohl darin seinen Grund haben, dass die Kohlehydrate von den Hefen ebenso stark angegriffen werden, wie von den Bakterien und beide Organismen zusammen natürlich den Zucker in kürzerer Zeit aufzehren als einer allein.

Um dies zu beweisen, wurde noch ein vierter Versuch auf mineralischem Nährboden ausgeführt.

Ich stellte mir nach der Vorschrift von Voges und Fränkel einen völlig peptonfreien Nährboden dar, welcher folgendermaassen zusammengesetzt ist:

Kochsalz	5 g	} auf 1 l Wasser
Neutrales käufliches Natriumphosphat	2 »	
Milchsaures Ammoniak	6 »	
Asparagin	4 »	

Derselbe erhielt 2 % Traubenzucker und wurde mit *Bact. brassicae acidae* geimpft. Es zeigte sich, dass nach 12 Tagen eine Säuremenge von 100 ccm = 6,5 ccm Na OH gebildet war. Zucker konnte noch nachgewiesen werden. Mit *Bact. brassicae acidae* + Hefe geimpft, wurden an Säure nach 6 Tagen gebildet: 100 ccm = 4,5 ccm norm. NaOH. Der Zucker verschwand von dieser Zeit an, ebenso wurde ein Steigen des Säuregehaltes nicht mehr beobachtet.

Also vollständig dieselben Erscheinungen wie auf Zuckerbouillon (vgl. Taf. I und V).

Ein weiterer Versuch zeigt die Vergärung von sterilisiertem Weisskraut mit *Bact. brassicae acidae* + Hefe, dem 100 ccm Wasser und 0,5 % Kochsalz zugesetzt wurden (Tab. V S. 31). Zum Vergleich seien auch hier die Zahlen von Tab. II, S. 15, gültig für die Vergärung des Weisskrauts ohne Hefe, nochmals angeführt:

Weisskraut ohne Hefe.		Weisskraut mit Hefe.	
Temp. 37°		Temp. 22°.	
1. Tag	100 ccm = 2,8 ccm	1. Tag	100 ccm = 2,8 ccm
3. »	100 » = 4,2 »	3. »	100 » = 4,1 »
6. »	100 » = 5,7 »	6. »	100 » = 5,8 »
9. »	100 » = 7,1 »	9. »	100 » = 7,3 »
12. »	100 » = 8,1 »	12. »	100 » = 8,3 »
17. »	100 » = 9,3 »	16. »	100 » = 9,3 »
22. »	100 » = 10,2 »	20. »	100 » = 10,3 »

Hier schreitet die Säurebildung in beiden Fällen fast genau gleichmässig fort, nur leisten die Bacterien im Verein mit den Hefen bei 22° dasselbe wie die Bacterien allein bei 37°.

Um auch die Einwirkung von *Bacterium brassicae acidae* + Hefe auf unsterilisiertes Weisskraut zu studiren, wurden zwei Parallelversuche angestellt, bei denen gewöhnliches Weisskraut eingesalzen, mit Wasser versetzt und mit *Bacterium brassicae acidae* + Hefe geimpft wurde. Ueber die Säurebildung gibt Tabelle VI Aufschluss.

Tabelle VI.

Säurebildung im unsterilisierten Weisskraut, versetzt mit *Bact. brass. acid.* und Hefe. Temperatur 22°.

Weisskraut wird zerschnitten, eingesalzen, mit Wasser versetzt und der Gährung überlassen.

Versuch A			Zeit nach dem	Versuch B		
Anwesen- heit der Bakterien	Säuremenge	Zucker		Anwesen- h. d. Bakterien	Säuremenge	Zucker
+	100,0 = 2,1 ccm norm. Na OH	+	1.Tag	+	100,0 = 2,1 ccm norm. Na OH	+
+	100,0 = 4 „ „	+	5. „	+	100,0 = 4,2 „ „	+
+	100,0 = 5,5 „ „	+	10. „	+	100,0 = 5,8 „ „	+
+	100,0 = 7,2 „ „	+	15. „	+	100,0 = 7,4 „ „	+
+	100,0 = 9,4 „ „	+	20. „	+	100,0 = 9,8 „ „	+
+	100,0 = 11 „ „	+	25. „	+	100,0 = 11,8 „ „	+
+	100,0 = 12 „ „	+	30. „	+	100,0 = 12,5 „ „	+
+	100,0 = 12,2 „ „	—	35. „	+	100,0 = 13,3 „ „	+
+	100,0 = 12,2 „ „	—	40. „	+	100,0 = 14 „ „	+
						schwach
+	100,0 = 12,2 „ „	—	45. „	+	100,0 = 14,4 „ „	—
—	100,0 = 12,2 „ „	—	50. „	+	100,0 = 14,4 „ „	—
nur noch Hefe- Colon.						
—	100,0 = 12,2 „ „	—	55. „	+	100,0 = 14,4 „ „	—
—	100,0			—		—
				Bacterium verschwunden, nur noch Hefecolonien.		

Man sieht daraus, dass in dem einen Versuch vom 30., in dem anderen vom 40. Tage an die Säurebildung aufhört und dass **gleichzeitig der Zuckergehalt verschwindet**. Die Bakterien konnten am 45. resp. 55. Tage durch Culturen nicht mehr nachgewiesen werden, dagegen etwas länger im Ausstrichpräparat.

Fassen wir die Resultate aller dieser Versuchsreihen zusammen, so können wir sagen, dass die Hefe die Säurebildung im Sauerkraut nur insoweit beeinflusst, als sie selbst Zucker consumirt, und dass die Bacterien ganz allein die Vergärung des Weisskrautes zu Stande bringen können. Nichtsdestoweniger scheint aber festgestellt, dass die Hefe unbedingt nothwendig ist, um dem Sauerkraut das angenehme Aroma und den Wohlgeschmack zu verleihen. Denn Weisskraut allein mit *Bacterium brassicae acidae* vergohren, gibt demselben einen unangenehmen, buttersäureartigen, stinkenden Geruch, der nur durch die Thätigkeit der Hefe aufgehoben wird. Wie man sich die Wirkung dieser Symbiose erklären soll, ist nicht ganz leicht, vielleicht ist die Annahme gerechtfertigt, dass die Produkte der Hefe mit den gebildeten höheren Säuren des Bacteriums esterartige Verbindungen bilden, die dann dem Sauerkraut den lieblichen Geruch verleihen.

Im Anschluss daran möge noch eine Tabelle Platz finden (Tabelle VII), auf der die Analysen der Gase, entstanden in 3proc. Zuckerkrautbrühe mit Hefen und *Bacterium acidae brassicae* geimpft, zusammengestellt sind.

Tabelle VII.

Gasanalyse der Hefen und des Bacterium

in 3proc. Krautzuckerbrühe bei 22° vergohren.

Menge 88 ccm		Menge 90 ccm	
70,4 ccm CO ₂ = 80 Vol.-Proc. CO ₂		72,9 ccm CO ₂ = 81 Vol.-Proc. CO ₂	
9,1 » H = 10,4 » H ₂		7,9 » H = 8,8 » H ₂	
1,1 » CH ₄ = 1,4 » CH ₄		1,1 » CH ₄ = 1,2 » CH ₄	
7,2 » N = 8,2 » N		8,1 » N = 9 » N	
Menge 70 ccm		Durchschnittsanalyse:	
53,9 ccm CO ₂ = 77 Vol.-Proc. CO ₂		79,2% CO ₂	
8,4 » H = 12 » H ₂		10,4 » H ₂	
1,1 » CH ₄ = 1,6 » CH ₄		1,4 » CH ₄	
6,6 » N = 9,4 » N		9 » N	

Diese Analysen zeigen im Vergleich zu den Gasanalysen auf pag. 21, welche nur mit *Bacterium brassicae acidae* allein angesetzt wurden, eine Erhöhung der Kohlensäure und eine Verminderung des Wasserstoffes und des Methangehaltes, wie

zu erwarten. Lässt man Hefe allein auf den genannten Nährboden einwirken, dann erhält man nur Kohlensäure.

IX. Säuregehalt verschiedener Sauerkrautsorten des Handels.

Der Säuregehalt des Sauerkrautes des Handels ist ein ziemlich schwankender. Ich habe mehrere Krautsorten untersucht und folgende Resultate erhalten:

Nr. 1	Sauerkraut aus Arolsen (Waldeck)	100 ccm = 11,5 ccm norm. Na OH
» 2	» » Würzburg	100 » = 12,0 » » »
» 3	» » Dresden	100 » = 14,0 » » »
» 4	» » Magdeburg	100 » = 15,0 » » »
» 5	» » Würzburg	100 » = 16,0 » » »
» 6	» » Geyer (Erzgebirge)	100 » = 27,0 » » »

Die geringeren Differenzen zwischen 11 und 16 ccm lassen sich höchst wahrscheinlich auf einen grösseren oder geringeren Gehalt an Zucker im frischen Weisskraut zurückführen, während bei der letzten Probe wohl ein künstlicher Säurezusatz angenommen werden muss. Es ist ja bekannt, dass in manchen Gegenden bei der Bereitung des Sauerkrautes zuweilen, um einen höheren Säuregehalt zu erzielen, Weisswein oder Essig zugesetzt wird.

X. Chemische Zusammensetzung des Weiss- und Sauerkrautes.

Die chemische Untersuchung zerfällt in zwei Theile:

I. Untersuchung des Weisskrautes.

II. Untersuchung des Sauerkrautes.

I. Chemische Untersuchung des Weisskrautes.

Vom Weisskraut existiren bereits eine ganze Reihe von Analysen, die König¹⁾ in übersichtlicher Weise zusammengestellt hat. Dieselben stimmen mit den von mir gefundenen Resultaten gut überein. Die Differenzen sind unerheblich.

Als Ausgangsmaterial benützte ich einen schönen festen Weisskrautkopf, der das stattliche Gewicht von 3750 g hatte. Derselbe wurde möglichst fein zerschnitten, soweit ich nicht zur Untersuchung frische Substanz brauchte, zwei Mal 24 Stunden

1) »Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel«, Berlin 1889, III. Aufl.

im Trockenschranke bei 30° getrocknet. Das Kraut war demnach lufttrocken, hatte eine schöne weisse Farbe und angenehmen Geruch und Geschmack.

Die gefundenen Resultate erstrecken sich auf den ganzen Krautkopf, da sowohl die Blätter als auch die Blattrippen zur Analyse benützt wurden.

Die Analysen sind auf 3 Decimalstellen berechnet, jedoch ist jedesmal die dritte Decimale, soweit dieselbe unter 5 unberücksichtigt, über 5 auf die nächsthöhere abgerundet worden.

Die von mir angewendeten Untersuchungsmethoden sind theils dem Lehrbuch von K. B. Lehmann¹⁾, theils König²⁾ entnommen.

So wurden die Bestimmungen der Stickstoffmengen nach der jetzt allgemein gebräuchlichen Methode von Kjeldahl ausgeführt. Ich unterschied jedoch hierbei:

1. Bestimmung der Gesamtstickstoffsubstanz,
2. Bestimmung des Eiweissgehaltes (nach Stutzer),
3. Bestimmung der nicht eiweisshaltigen Stickstoffverbindungen;

denn es ist von Stutzer³⁾ nachgewiesen worden, dass es nicht korrekt ist, den Gesamtstickstoff als reine Proteïnsubstanz anzunehmen, sondern, dass gerade in den Gemüsen der Proteïngehalt im Verhältniss zum Gesamtstickstoff kaum die Hälfte beträgt, was den Nährwerth der betreffenden Gemüsearten stark beeinflusst.

So wies C. Böhrer⁴⁾ in einigen Gemüsen und Pilzen den verschiedenen Gehalt an Eiweiss und an nicht eiweissartigen Stickstoffverbindungen nach; ich führe als Beispiel nur die untersuchten Kohlarten an:

Kohlrabi (*Brassica oleracea caulorapa*):

44,2% Protein und 55,8% nicht eiweissartige Stickstoffverbindungen.

Blumenkohl (*Brassica oleracea botrytis*):

50,9% Protein und 49,1% nicht eiweissartige Stickstoffverbindungen.

1) K. B. Lehmann, Methoden der prakt. Hygiene, Wiesbaden 1890.

2) König, Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel, Berlin 1889, III. Aufl.

3) Stutzer, Repertorium für analytische Chemie, 1885.

4) C. Böhrer, Landwirthschaftl. Versuchsstation, 1882, Bd. 28.

Ueber den Eiweissgehalt des Weisskrauts ist zur Zeit noch nichts bekannt. Die Untersuchungsmethode nach Stutzer ist folgende:

1—2 g der zu untersuchenden, durch ein 1 mm weites Sieb geschlagenen Substanz werden in einer Porcellanschale mit 100 ccm Wasser übergossen und 10 Minuten im Wasserbade erwärmt, dann mit 0,3—0,4 g aufgeschlemmtem Kupferhydroxyd versetzt, vorher jedoch noch einige Cubikcentimeter einer 5proc. Alaunlösung zugefügt, wodurch gelöste Phosphate unter Bildung unlöslicher phosphorsaurer Thonerde gefällt werden. Hierauf wird die Masse nach dem Erkalten durch ein Filter von schwedischem Filtrirpapier filtrirt, der auf dem Filter befindliche Rückstand mit kaltem Wasser ausgewaschen und sammt Filter noch feucht nach der Methode von Kjeldahl untersucht.

Aus der Differenz der Gesamtstickstoffsubstanz minus Eiweiss ergibt sich die in Form von Nicht-Eiweissverbindungen vorhandene Stickstoffsubstanz.

Als Ausgangsmaterial zur Fettbestimmung wurde ursprünglich lufttrockenes Kraut genommen, das jedoch vorher durch ein 1 mm weites Sieb geschlagen, dann 24 Stunden bei 70° getrocknet, hierauf im Szombathi-Soxhlet-Apparat mittels Aether extrahirt wurde.

Zur quantitativen Bestimmung der Kohlehydrate wurde die Methode von Allihn benützt. 10,0 Kraut werden ca. 5 Mal mit je 200 ccm Wasser ausgekocht. Das Decoct auf 200 g eingedampft, wird in 2 Theile zu je 100 g getheilt. Hiervon wird der erste Theil auf Dextrose geprüft und zwar werden jedes Mal 10 ccm genommen.

Der zweite Theil wird auf Invertzucker untersucht, indem derselbe mit 5 ccm Salzsäure versetzt, 2 Stunden im Wasserbade erhitzt, dann genau neutralisirt, auf 100 ccm aufgefüllt und hiervon werden ebenfalls je 10 ccm zur Prüfung gebraucht.

Die Berechnung des Zuckers aus dem reducirten metallischen Kupfer geschah mittels der Tabellen von E. Wein.¹⁾

1) Tabellen zur quantit. Bestimmung der Zuckerarten, Stuttgart 1888.

Die Cellulosebestimmung ist nach der Weender'schen Methode ausgeführt worden.

II. Chemische Untersuchung des Sauerkrauts.

Vom Sauerkraut sind bis jetzt nur 2 Analysen nach E. Reichardt¹⁾ veröffentlicht.

Dieselben differiren unter einander stark und sind, besonders im Stickstoffgehalt, auch von den von mir gefundenen Ergebnissen abweichend.

Eine Erklärung hierfür dürfte in der sehr schwankenden chemischen Zusammensetzung — siehe Säuregehalt S. 35 — des Sauerkrauts zu finden sein.

Als Ausgangsmaterial nahm ich Sauerkraut aus einer Würzburger Sauerkrauthandlung, das consumfähig war und einen Säuregehalt von 1,26 %, auf Milchsäure berechnet, hatte.²⁾ Leider musste ich darauf verzichten, Sauerkraut aus dem eben in seiner Zusammensetzung beschriebenen Weisskraut zu analysiren.

Die Untersuchungsmethoden waren dieselben wie bei der Weisskrautanalyse und verweise ich darauf.

Zucker konnte nicht nachgewiesen werden, derselbe ist wohl ganz in Säure verwandelt. Das Fehlende an 100% wurde als stickstofffreie Substanz angenommen.

1. a) Wassergehalt in frischem Sauerkraut.

Nr. I	7,137 g Substanz hinterlassen	0,5395 g Trockensubst.	= 92,44% Wasser
» II	6,842 » » »	0,490 » »	= 92,84 » »
» III	2,644 » » »	0,196 » »	= 92,59 » »

Durchschnittsanalyse = 92,62% = **92,6%** Wasser.

1) E. Reichardt, Zeitschrift für Nahrungsmitteluntersuchung und Hygiene, Wien 1891, Nr. 3.

2) Die Titirung des gewöhnlichen Sauerkrautes wurde so ausgeführt, dass ich 100,0 Kraut möglichst aus der Mitte des Topfes herausnahm, mit ca. 400,0 abgekochtem, destillirtem Wasser übergoss, 10 Minuten unter öfterem Umrühren stehen liess, dann 2—3 Minuten auf 60° im Wasserbade erhitze, um die Kohlensäure zu verjagen und nach dem Erkalten mittels $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge titirte (in den Tabellen auf Normalnatronlauge umgerechnet). Als Indicator benützte ich Phenolphthalein, gleichzeitig die Tüpfelprobe auf Lackmuspapierstreifen zur Controle, da mitunter der Farbumschlag nicht prompt genug eintrat.

b) Wassergehalt im luftgetrockneten Sauerkraut.

Nr. I	3,8055 g Substanz hinterlassen	3,4935 g Trockensubst.	= 8,20% Wasser
» II	3,7420 » » »	3,424 » »	= 8,5 » »
» III	3,4680 » » »	3,1590 » »	= 8,91 » »
Durchschnittsanalyse = 8,54% = 8,5% Wasser.			

2. a) Gesamtstickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Ausgangsmaterial: luftgetrocknetes Sauerkraut. Wassergehalt 8,5%.

Indicator: Phenolphthalein.

Vorgelegt: 25 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure (titriert mit $\frac{1}{5}$ norm. Natronlauge).

Nr. I	1,2925 g Kraut brauchen	6 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, in 1 g sind enthalten	1,30% Stickstoff resp. 8,12% Stickstoffsubstanz ¹⁾ .
» II	1,375 » Kraut brauchen	6,5 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, in 1 g sind enthalten	1,32% Stickstoff resp. 8,27% Stickstoffsubstanz.
» III	0,8685 g Kraut brauchen	4,1 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, in 1 g sind enthalten	1,32% Stickstoff resp. 8,26% Stickstoffsubstanz.

Durchschnittsanalyse:

im frischen Kraut	0,11% Stickstoff, 0,6% Stickstoffsubstanz,
im luftgetrockneten Kraut	1,31 » » 8,19% »
auf Trockensubstanz berechnet	1,43 » » 8,94 » »

2. b) Eiweissbestimmung nach Stutzer.

Ausgangsmaterial: luftgetrocknetes Sauerkraut mit 8,6% Wassergehalt.

Indicator: Phenolphthalein.

Vorgelegt: 25 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure (titriert mit $\frac{1}{5}$ norm. Natronlauge).

Nr. I	0,922 g Substanz brauchen	2,3 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, dies entspricht	0,66% Stickstoff resp. 4,37% Eiweiss in 1 g.
» II	1,302 g Substanz brauchen	3 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, dies entspricht	0,64% Stickstoff resp. 4,03% Eiweiss in 1 g.
» III	1,382 » Substanz brauchen	3,2 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, dies entspricht	0,65% Stickstoff resp. 4,06% Eiweiss in 1 g.

Durchschnittsanalyse:

im frischen Sauerkraut	0,05% Eiweissstickstoff resp. 0,31% Eiweiss,
im luftgetrockneten Sauerkraut	0,66 » » 4,16 » »
auf Trockensubst. berechn.	0,72 » » 4,13 » »

in der Trocken- substanz	{	Gesamtstickstoff	1,43%, Gesamtstickstoffsubstanz	8,94%,
		Eiweissstickstoff	0,72 » Eiweiss	4,13 »
		Stickstoff in nicht eiweiss- haltigen Verbindungen	0,71%. Stickstoffsubstanz in nicht eiweisshalt. Verbindung.	4,81%.

1) Wurde aus dem Stickstoffgehalt unter Anwendung des Factors 6,25 ermittelt, da eine Differencirung der verschiedenen, im Kraute enthaltenen Stickstoffsubstanzen nicht stattgefunden und die Benützung des Factors 6 auch nicht einwandfrei sein dürfte.

3. Fettbestimmung.

Ausgangsmaterial: Kraut ohne Wassergehalt.

Nr. I	6,4435 g Subst. hinterlass. n. d. Aetherextr.	0,6515 g Fett = 10,11% Fett
» II	5,8885 » » » » »	0,577 » » = 9,8 » »
» III	7,346 » » » » »	0,720 » » = 9,8 » »

Durchschnittsanalyse 9,96% Fett in der Trockensubstanz
im frischen Kraut . 0,74 » Fett.

4. Cellulosebestimmung nach Weender.

Ausgangsmaterial: luftgetrocknetes Kraut, Wassergehalt 8,5%.

Nr. I	3,0525 g Substanz enthalten	0,5565 g Cellulose = 18,23 % Cellulose
» II	3,241 » » » » »	0,5998 » » = 18,51 » »

Durchschnittsanalyse = 18,37% Cellulose
im frischen Sauerkraut = 1,49 » »

5. Säuregehalt.

Indicator: Phenolphthaleïn.

An freier Säure im frischen Sauerkraut: 100 g Kraut brauchen 14 ccm norm. Natronlauge.

Auf Milchsäure berechnet: 1,26% Milchsäure.

6. Aschebestimmung.

Ausgangspunkt: Kraut ohne Wassergehalt.

Nr. I	1,34 g Substanz hinterlassen	0,2197 g Asche = 16,4 %
» II	1,524 » » » » »	0,2505 g » = 16,44 »

Durchschnittsanalyse . . 16,42% Asche in der Trockensubstanz
im frischen Sauerkraut . 1,22 » Asche.

III. Chemische Untersuchung des Weisskrauts.

1. a) Wassergehalt des Weisskrauts.

3,342 g Ursubstanz nach d. Trocknen:	0,2935 g Rückstand = 91,21% Wasser
2,643 » » » » »	0,2325 » » = 91,30 » »
3,0397 » » » » »	0,2762 » » = 90,91 » »

Durchschnittsanalyse = 91,1% Wasser.

b) Wassergehalt des luftgetrockneten Weisskrauts (Gemüseconserven).

3,995 g Ursubstanz nach d. Trocknen:	3,631 g Rückstand = 9,11% Wasser
5,154 » » » » »	4,654 » » = 9,70 » »
5,4336 » » » » »	4,8956 » » = 9,90 » »

Durchschnittsanalyse = 9,57 = 9,6% Wasser.

2. a) Gesamtstickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Ausgangsmaterial: luftgetrocknetes Weisskraut, Wassergehalt 9,6%.

Indicator: Phenolphthaleïn.

Vorgelegt: 25 ccm $\frac{1}{16}$ norm. Schwefelsäure (titriert mit $\frac{1}{16}$ norm. Natronlauge).

1,074 g Substanz brauchen 9,5 ccm $\frac{1}{16}$ norm. Schwefelsäure, demnach enthält
1 g 2,46% Stickstoff resp. 15,48% Stickstoffsubstanz.

1,0335 g Substanz brauchen 9,3 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, demnach enthält 1 g 2,51% Stickstoff resp. 15,75% Stickstoffsubstanz.

1,124 g Substanz brauchen 10 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, demnach enthält 1 g 2,49% Stickstoff resp. 15,57% Stickstoffsubstanz.

Durchschnittsanalyse:

im frischen Kraut . . . 0,24% Stickstoff resp. 1,53% Stickstoffsubstanz,
im lufttrockenen Kraut . . 2,48 » » » 15,4 » »
auf Trockensubst. berechn. 2,74 » » » 17,13 » »

2. b) Eiweissbestimmung nach Stutzer.

Ausgangsmaterial: lufttrockenes Weisskraut, Wassergehalt 9,6%.

Indicator: Phenolphthalein.

Vorgelegt: 25 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefels. (titriert mit $\frac{1}{5}$ norm. Natronlauge).

1,1425 g Substanz brauchen 4 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, in 1 g sind enthalten 0,98% Stickstoff resp. 6,13% Eiweiss.

1,0872 g Substanz brauchen 3,9 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, in 1 g sind enthalten 1% Stickstoff resp. 6,29% Eiweiss.

1,12 g Substanz brauchen 4 ccm $\frac{1}{5}$ norm. Schwefelsäure, in 1 g sind enthalten 1% Stickstoff resp. 6,25% Eiweiss.

Durchschnittsanalyse:

im frischen Kraut 0,1 % Stickstoff resp. 0,63% Eiweiss,
im lufttrockenen Kraut 0,99 » » » 6,19 » »
auf Trockensubstanz berechnet . 1,09 » » » 6,81 » »

in der Trocken- substanz	{	Gesamtstickstoff . . . 2,74%	Gesamtstickstoffsubstanz 17,13%
		Eiweissstickstoff . . . 1,09 »	Eiweiss 6,81 »
		Stickstoff in nicht eiweiss- haltigen Verbindungen 1,65%.	Stickstoffsubstanz in nicht eiweisshalt. Verbindung. 10,32%.

3. Fettbestimmung.

Ausgangsmaterial: lufttrockenes Kraut, das 24 Stunden bei 70° getrocknet wurde, ohne Wassergehalt.

Nr. I 11,431 g Substanz nach d. Aetherextract. 0,127 g Rückstand = 1,11% Fett

» II 9,5275 g » » » 0,11 g » = 1,15 » »

» III 9,7505 g » » » 0,1125 g » = 1,15 » »

Durchschnittsanalyse: in der Trockensubstanz = 1,14 %

im lufttrockenen Kraut = 1,03 »

im frischen Weisskraut = 0,101 »

4. Kohlehydratbestimmung nach Allihn.

Ausgangsmaterial: lufttrockenes Weisskraut, Wassergehalt 9,0%.

a) Dextrosebestimmung:

Je 10 ccm Lösung ergaben:

Nr. I = 0,2870 g Kupfer

» II = 0,2860 g »

» III = 0,2855 g »

Hievon der Durchschnitt = 0,2862 g Kupfer, 0,2862 g Kupfer = 0,1488 g Dextrose in 0,5 g Kraut = 29,76% Dextrose im lufttrockenen Kraut.

b) Invertzuckerbestimmung:

Je 10 ccm der invertirten Zuckerlösung ergaben:

Nr. I = 0,400 g Kupfer

» II = 0,410 g »

» III = 0,415 g »

Hievon der Durchschnitt = 0,411 g Kupfer, 0,411 g Kupfer

— 0,286 » »

0,125 g Kupfer = 0,655 g

Invertzucker in 0,5 g Kraut = 13,10 % Invertzucker,

29,76 » Dextrose

42,86 % Kohlehydrate,

im frischen Weisskraut: 1,29% Invertzucker + 2,93% Dextrose = 4,22% Kohlehydrate

in der Trockensubstanz: 14,49 » + 32,92 » = 47,41 »

5. Cellulosebestimmung nach Weender.

Ausgangsmaterial: lufttrockenes Kraut, Wassergehalt 9,6%.

2,9425 g Substanz enthält 0,3460 g Cellulose = 11,76% Cellulose

2,7985 » » 0,3235 » = 11,56 »

Durchschnittsanalyse: im lufttrockenen Weisskraut = 11,66% Cellulose,

im frischen Weisskraut = 1,15 »

in der Trockensubstanz = 12,9 »

6. Aschebestimmung.

Ausgangsmaterial: bei 100° getrocknetes Weisskraut, ohne Wassergehalt.

2,0495 g Substanz ergaben 0,1845 g = 9% Asche

2,8640 » » 0,2560 g = 8,94% »

Durchschnittsanalyse: in der Trockensubstanz = 8,97% Asche,

im lufttrockenen Weisskraut = 8,11 »

im frischen Weisskraut = 0,80 »

Gesamtanalyse des Sauerkrauts.

In 100 Theilen sind enthalten:

Wassergehalt . . . 92,6

[Gesamtstickstoff . . . 0,11 { Eiweissstickstoff . . . 0,05
Stickstoff in nicht eiweiss-
haltigen Verbindungen 0,06]

Gesamtstickstoffsubst. 0,69 { Eiweiss 0,31
Nicht eiweiss-
haltige Stickstoffverbindungen 0,38

Stickstofffreie Substanz 2,00

Fett 0,74

Cellulose 1,49

Freie Säure 1,26

Asche 1,22

Auf Trockensubstanz berechnet:

Gesamtstickstoff . . . 1,43%

Gesamtstickstoffsubstanz . 8,94 »

Gesamttanalyse des Weisskrautes.

In 100 Theilen sind enthalten:

	Frishes Weisskraut	Lufttrockenes Weisskraut (Gemüseconserven)	Auf Trockensubstanz berechnet
Wassergehalt . . .	91,1	9,6%	—
[Gesamtstickstoff . . .]	0,21 Eiweissstickstoff 0,1 Stickstoff in nicht eiweiss- haltigen Verbindungen 0,11	2,48 Eiweissstickstoff 0,99 Stickstoff in nicht eiweiss- haltigen Verbindungen 1,49	2,74 Eiweissstickstoff 1,09 Stickstoff in nicht ei- weisshaltig. Verbind. 1,65
(Gesamtstickstoffsub- stanz)	1,53 0,63 Eiweiss 0,90 nicht eiweiss- haltige Stickstoff- verbindungen	15,4 6,19 Eiweiss 9,21 nicht eiweiss- haltige Stickstoff- verbindungen	17,13 6,81 Eiweiss 10,32 nicht eiweiss- haltige Stickstoff- verbindungen
Fett	0,1	—	—
Kohlhydrate . . .	4,22 Dextrose 2,93 Invertzucker 1,29	42,86 Dextrose 29,76 Invertzucker 13,16	47,41 Dextrose 32,92 Invertzucker 14,49
Cellulose	1,15	11,66	—
Asche	0,8	8,11	—

Zum Schlusse der Arbeit mögen die Hauptresultate der Untersuchungen nochmals zusammenfassend Platz finden.

1. Die Vergährung des Weisskrauts zum Sauerkraut bewirkt das *Bacterium brassicae acidae* (Lehmann und Conrad), ein naher Verwandter des *Bacterium coli*.

2. Beständig finden sich beim Gährungsprocess noch 2 Hefearten: eine dem *Saccharomyces cerevisiae* und eine dem *Saccharomyces minor* nahestehend.

3. Das *Bacterium* bildet im Weisskraut und auch experimentell in Zuckerlösungen eine Menge Säure, welche bis zu einem gewissen Grade im Laufe der Zeit zunimmt und dann constant bleibt. Die Bakterien gehen dabei allmählich zu Grunde.

4. Aërob oder anaërob ist die Säurebildung gleich, die Temperatur beeinflusst die schnelle Steigerung derselben stark.

5. Die am meisten vorherrschende Säure ist die optisch inactive Aethylidenmilchsäure.

6. Die Bakterien bilden im Sauerkraut ausser der Säure Gase und zwar ausser Kohlensäure und Wasserstoff noch Methan, eine Eigenschaft, welche von den nahestehenden Arten bisher nicht bekannt ist.

7. Ausser durch die Fähigkeit, Methan zu bilden, unterscheidet sich das *Bacterium* nicht weiter von dem in Frage kommenden *Bacterium coli*, dagegen von dem nahestehenden *Bacterium acidi lactici* durch die Beweglichkeit und dadurch, dass es sich nach der Gram'schen Methode entfärbt.

8. Die Hefen sind an der Gährung theilhaft, der von ihnen gebildete Alkohol liefert höchst wahrscheinlich das Material zur Esterbildung. Bei der Vergährung von Zuckernährböden mit Hefen und Bakterien zusammen bleibt der üble buttersäureartige Geruch der älteren Reinculturen des *Bacterium* aus, die Gase sind reicher an Kohlensäure, ärmer an Wasserstoff und Methan.

9. Der Gesamtstickstoffgehalt des Weisskrautes ist zu 40% als Eiweiss, zu 60% in nicht eiweissartigen Stickstoffverbindungen enthalten.

10. Zucker fehlt im vollständig vergohrenen Sauerkraut gänzlich, an seine Stelle tritt der dem Zucker entsprechende Säuregehalt.

Vorstehende Arbeit führte ich im hygienischen Institut der Universität Würzburg auf Veranlassung und unter Leitung des Herrn Professors Dr. K. B. Lehmann aus. Mit Vergnügen benütze ich die Gelegenheit, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer für den gütigst geleisteten Rath und Beistand meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen.

Auch Herrn Professor Dr. Hüfner, Vorstand des physiologisch-chemischen Instituts der Universität Tübingen bin ich für gütige Uebernahme des Referats zu herzlichem Dank verpflichtet.



